Iranian Journal of Pulses Research
Homepage: https://ijpr.um.ac.ir
Vol. 12, No. 2, December 2021, p. 12-25
Original Research; DOI: 10.22067/ijpr.v12i2.84971

پژوهش‌های حبوبات ایران
سال(دوره) ۱۲ شمارهٔ ۲، نیمهٔ دوّم ۱۴۰۰
صفحهٔ ۲۵-۱۲، نوع مقاله: پژوهشی

بررسی مؤلفه‌های پُرشدن دانه نخود (*Cicer arietinum* L.) با استفاده از مدل دوتکه‌ای در شرایط قطع آبیاری، کاربرد متانول و تلقیح بذر با کودهای زیستی

رئوف سیدشریفی[1]* و رضا سیدشریفی[2]

۱- استاد فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۲- دانشیار ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل؛
reza_seyedsharifi@yahoo.com

تاریخ‌ها:
دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۶، بازنگری: ۱۳۹۹/۰۳/۰۶، پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۰۶؛ انتشار آنلاین مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۰۱

نحوه ارجاع به مقاله:
سیدشریفی، ر.، و سیدشریفی، ر. ۱۴۰۰. بررسی مؤلفه‌های پُرشدن دانـه نخـود (*Cicer arietinum* L.) بـا اسـتفاده از مدل دوتکه‌ای در شرایط قطع آبیاری، کاربرد متانول و تلقیح بذر با کودهای زیستی. پژوهش‌های حبوبـات ایـران ۱۲(۲): ۲۵-۱۲.

چکیده

به منظور بررسی مؤلفه‌های پُرشدن دانهٔ نخود با استفاده از مدل دوتکه‌ای در شرایط قطع آبیاری، کـاربرد متـانول و تلقیح بذر با کودهای زیستی، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامـل تصـادفی در سـه تکـرار در مزرعه‌ای در روستای پیرالقر اردبیل در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش عبارت بودند از: کاربرد متانول در سه سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد، کاربرد ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی)، کودهای زیستی در چهـار سـطح (عـدم مصرف به‌عنوان شاهد، کاربرد مزوریزوبیوم سیسری، کاربرد توأم میکـوریز و مزوریزوبیـوم سیسـری، کـاربرد مزوریزوبیـوم سیسری با سودوموناس و میکوریز) و آبیاری در سه سطح (آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، محـدودیت شـدید آبـی یـا قطـع آبیاری در مرحله گلدهی و محدودیت ملایم آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع غلاف‌دهی). از مدل خطی دوتکه‌ایی برای کمی‌کردن مؤلفه‌های مربوط به پُرشدن دانه استفاده شد. نتایج نشان داد بیشترین تعـداد و وزن گـره (بـه‌ترتیـب ۱۱/۶ و ۱۳/۲۱ میلی‌گرم در بوته)، شاخص سبزینگی (۵۰/۲۸)، سرعت پُرشدن دانه (۰/۰۱۱ گرم در روز)، طول دوره و دوره مـؤثر پُرشدن دانه (به‌ترتیب ۳۹/۵۷ و ۳۲/۲ روز) و عملکرد دانه (۱۴۵۵ کیلوگرم در هکتار) در شرایط آبیـاری کامـل و سـطوح بالای متانول و کاربرد مزوریزوبیوم سیسری با سودوموناس و میکوریز به دست آمد که از یک افـزایش، بـه ترتیـب ۲۳۷ و ۱۴۸درصدی تعداد و وزن گـره، ۸۴/۱۷ درصـدی شـاخص سـبزینگی، ۳۴/۴۸ درصـدی سـرعت پُرشـدن دانـه، ۲۱/۳۸ و ۲۵/۳درصدی به ترتیب طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه، ۱۱۱درصدی عملکرد دانه در مقایسه با عدم کاربرد متـانول و کودهای زیستی در شرایط قطع آبیاری در مرجله گلدهی برخوردار بود. بر اساس نتایج این بررسی به نظر مـی‌رسـد کـه تلقیح بذر با کودهای زیستی و محلول‌پاشی با متانول در افزایش عملکرد، سرعت و طول دوره مؤثر پُرشدن دانه در شرایط محدودیت آبی تأثیرگذار است.

واژه‌های کلیدی: ریزوبیوم لگومینوزاروم؛ سودوموناس؛ عملکرد؛ محدودیت آبی؛ میکوریز

مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L.) یکی از منابع مهم پروتئین گیاهی بوده و در بـین حبوبـات سـطح زیرکشـت آن در کشـور حدود ۴۸۵ هزار هکتار برآورد شده است که معادل ۶۵درصد از کل سطح برداشت حبوبات است و در ایـن میـان سـهم اراضـی دیـم نخـود بـیش از ۹۵ درصـد اسـت (Ministry of Jihad Agriculture, 2018). عملکرد این گیـاه نسـبت بـه میـانگین عملکرد جهانی و کشورهای مهم تولیدکننـده آن بسـیار پـایین است. عوامل و فاکتورهای مختلفی در پایین‌بودن عملکرد نخـود در ایران مؤثر هسـتند کـه مهـم‌تـرین آن محـدودیت آبـی بـه خصوص در طول دوره رشد زایشی در منـاطق خشـک و نیمـه خشک است (Sabaghpour *et al.*, 2019).

امروزه روش‌های مختلفی برای تعدیل و یا کاهش اثر ناشی از تنش در نظر گرفته شده است. در این زمینـه کـاربرد کودهـای

* **نویسنده مسئول:** raouf_ssharifi@yahoo.com

زیستی و متانول می‌توانند مقاومت گیاه را در برابر شرایط تنش زای محیط اعم از محدودیت آبی و شوری افزایش دهند (Hadi *et al.*, 2015). مصرف کودهای زیستی در شرایط تنش خشکی نه‌تنها موجب افزایش مقاومت گیاهان می‌شود، بلکه میکروارگانیسم‌های ازدست‌رفته خاک را جبران می‌کند و افزایش جمعیت‌های میکروبی در خاک یا ریزوسفر به وسیلۀ افزایش جذب مواد غذایی و قابل‌دسترس‌ساختن آن، موجب رشد بهینه گیاه می‌شوند (Roesti *et al.*, 2006). در این راستا Qiao *et al.*, (2011) در بررسی اثر قارچ میکوریز آربوسکولار بر مقاومت به خشکی گیاه نخود در شرایط کمبود رطوبت، دریافتند که همزیستی میکوریزی به طور قابل‌ملاحظه‌ای موجب توسعه سیستم ریشه‌ای، ارتفاع بوته و محتوای کلروفیل برگ‌ها شد. برخی محققان (Sohrabi *et al.*, 2012) در بررسی اثر قارچ‌های میکوریز بر دو رقم نخود در سطوح مختلف آبیاری دریافتند که کاربرد میکوریز در هر دو شرایط محدودیت آبی و آبیاری کافی، محتوای کلروفیل برگ‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. افزایش محتوای کلروفیل در طول دوره رشد به خصوص دورۀ پُرشدن دانه با افزایش میزان مواد فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز در اندام های فتوسنتزکننده و افزایش وزن دانه (Murchie *et al.*, 2002)، موجب افزایش سرعت و طول دوره پُرشدن دانه می‌شود (Tsuno *et al.*, 1994).

طولانی‌بودن طول دورۀ پُرشدن دانه امکان انتقال مواد فتوسنتزی بیشتر از مبدأ به مقصد و در نتیجه افزایش عملکرد دانه را فراهم می‌سازد (Khalilzadeh *et al.*, 2018). برخی محققان اظهار داشتند محدودیت آبی موجب کاهش طول دوره پُرشدن دانه می‌شود و به دلیل کاهش این دوره، بذرها مواد کمتری را دریافت نموده و همین امر موجب می‌شود که حداکثر وزن بذر و به تبع از آن، عملکرد دانه کاهش یابد (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2010). نتایج مشابهی نیز مبنی بر این‌که محدودیت آبی می‌تواند با کاهش تولید مواد فتوسنتزی، موجب اختلال در انتقال عناصر غذایی به دانه شود، توسط Lawlor & Cornic (2002) گزارش شده است.

یکی از راه‌کارهای مؤثر در تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی و افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن به خصوص در گیاهان سه کربنه مانند نخود در شرایطی که با تنفس نوری زیاد مواجه هستند، استفاده از ترکیباتی مانند متانول است (Ramberg *et al.*, 2002). متانول به راحتی برای گیاهان قابل‌جذب می‌باشد و می‌تواند با افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن بخشی از تلفات کربن تثبیت شده توسط فتوسنتز را جبران نماید. دی‌اکسید کربن حاصل از اکسیداسیون سریع متانول با افزایش غلظت این ماده در بافت‌های فتوسنتزکننده، موجب افزایش فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو، افزایش سرعت و میزان فتوسنتز و کاهش تنفس نوری می‌شود (Ramberg *et al.*, 2002). همچنین متانول تولیدشده در داخل گیاهان علاوه بر اثر مستقیم بر رشد، از طریق تحریک فعالیت باکتری‌های متیلوتروف نیز بر رشد گیاهان اثر قابل‌توجهی دارد، زیرا این باکتری‌ها با مصرف مقداری از متانول تولیدشده در برگ‌ها، منجر به تولید هورمون‌هایی نظیر اکسین و سایتوکینین در گیاهان شده (Dorkhov *et al.*, 2015) و از طریق اثر بر روی محرک‌های تولید اتیلن موجب تأخیر در پیری برگ‌ها می‌شود. در این راستا Nemecek *et al.*, (1995) اظهار داشتند که محلول‌پاشی متانول روی قسمت‌های هوایی گیاهان زراعی موجب افزایش عملکرد، تسریع در رسیدگی، کاهش اثر تنش خشکی و نیاز آبی گیاهان می‌شود. Amiri Deh Ahmadi *et al*, (2011) گزارش‌کردند که محلول‌پاشی متانول موجب افزایش محتوای کلروفیل نسبت به عدم کاربرد آن شد. Dawood *et al*, (2013) گزارش‌کردند که محلول‌پاشی متانول با غلظت‌های ۱۰ تا ۲۵ درصد حجمی بر تمامی صفاتی مانند تعداد دانه، تعداد غلاف، تعداد برگ، ارتفاع بوته، تعداد شاخه و عملکرد سویا (*Glycine max* L.) معنی‌دار بود. برخی پژوهشگران گزارش کردند که محلول‌پاشی متانول در لوبیای (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش خشکی، موجب افزایش ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد غلاف در بوته و وزن خشک ریشه شد (Armand *et al.*, 2016).

در بیشتر مناطق کشور بخشی از دوران رشد زایشی نخود با کم‌آبی روبرو است. از این رو استفاده از روش‌هایی که موجب کاهش یا تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی شود، ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا به دلیل اهمیت متانول و کودهای زیستی در تعدیل بخشی از این شرایط تنشی ایجاد شده و بررسی‌های محدود انجام‌شده در خصوص برهم‌کنش توأم این دو عامل (متانول و کودهای زیستی)، موجب شد تا تأثیر آن‌ها بر عملکرد و مؤلفه‌های پُرشدن دانه نخود با استفاده از مدل دوتکه‌ای مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این بررسی به‌صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه‌ای در روستای پیرالقر اردبیل با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۰دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی با ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا در سال ۹۷- ۱۳۹۶ اجرا شد. اقلیم محل اجرای آزمایش از نوع نیمه‌خشک سرد می‌باشد. متوسط بارش سالیانه آن بر اساس آمار ۳۰ ساله هواشناسی بین۳۰۰-۲۸۰ میلی‌متر متغیر

است. عوامل مورد بررسی شامل کاربرد متانول در سه سطح (عدم استفاده به‌عنوان شاهد، کاربرد ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی)، کودهای زیستی در چهار سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد، کاربرد مزوریزوبیوم سیسری، کاربرد توأم میکوریز و مزوریزوبیوم سیسری، کاربرد مزوریزوبیوم سیسری با سودوموناس و میکوریز) و سه سطح آبیاری (آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، محدودیت شدید آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی و محدودیت ملایم آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع غلاف‌دهی) بود. به منظور افزایش همزیستی میکوریزی از قارچ *Glomus mosseae* و بذور ضدعفونی‌نشده استفاده شد. این قارچ‌ها از شرکت زیست‌فناوران توران تهیه شد. میکوریز به مقدار ۲۰ گرم قارچ در هر مترمربع خاک (۲۰۰ کیلوگرم در هر هکتار) بر اساس توصیه شرکت مذکور استفاده شد. تعداد اسپور زنده در هر گرم قارچ مورد استفاده حدود ۱۰۰ اسپور بود. کشت در مزرعه‌ای انجام شد که دو سال قبل از آن، هیچ گیاهی در آن مزرعه کشت نشده بود. در بهار به محض مساعدشدن شرایط اقلیمی، کاشت با دست در عمق چهار تا پنج سانتی‌متری و به‌صورت هیرم‌کاری انجام شد. هر واحد آزمایشی شامل پنج ردیف سه متری با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر بود. بین هر واحد آزمایشی حداقل ۱/۵متر فاصله نکاشت به منظور جلوگیری از اثر محلول‌پاشی و نشت آب به کرت‌های مجاور قرار داده شد. رقم مورد استفاده ILC482 بود. این رقم نیمه‌پاکوتاه و نیمه‌ایستاده است. به بیماری برق‌زدگی مقاوم بوده و از تحمل بالایی به سرما به خصوص سرمای ابتدای فصل برخوردار است. در مرحله چهار تا پنج برگی به منظور اعمال تراکم مناسب بوته‌ها (۳۵ بوته در مترمربع) که تراکم مطلوب و توصیه‌شده برای این رقم است، گیاهچه‌ها تنک شدند. برای تلقیح بذر با مزوریزوبیوم سیسری و سودوموناس پوتیدا از مایه تلقیحی که هرگرم آن دارای 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بود، استفاده شد. همچنین از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. تمامی بذرها به مدت دو ساعت به منظور تماس بهتر بذر با باکتری در مایه تلقیح در شرایط تاریکی قرار داده شدند. محلول‌پاشی با متانول در دو مرحله از رشد (طی رشد رویشی یا مرحله V_3 یعنی زمانی‌که سومین برگ چندبرگچه‌ای از ساقه اصلی باز می‌شود و مرحله دیگر در اوایل گلدهی) بر اساس سطوح متانول انجام شد. با توجه به این‌که بهترین زمان محلول‌پاشی با متانول ساعت ۱۰ تا ۱۲ در روشنایی بود، تا حداکثر فتوسنتز انجام شود و نقش متانول بر صفات مورد ارزیابی بهتر نمایان شود (Nonomura & Benson 1992)، از این رو همه تیمارها در این محدوده زمانی محلول‌پاشی شدند. به هرکدام از محلول‌های تهیه‌شده با متانول دو گرم در لیتر گلایسین به منظور جلوگیری از صدمات ناشی از سمیت متانول اضافه شد.

به‌منظور تعیین اثر تیمارها بر گره‌زایی و وزن خشک گره، در هر واحد آزمایشی سه کیسه پلاستیکی به قطر ۴۰سانتی‌متر دو لایه در عمق ۶۰ سانتی‌متری خاک که کف پلاستیک‌ها به منظور زهکشی خاک سوراخ شده بود، در خطوط اصلی هر کرت با همان تراکم کاشت ۳۵ بوته در متر مربع در نظر گرفته شد. عملیات کاشت و دیگر عوامل زراعی در کیسه‌های پلاستیکی مشابه دیگر خطوط کاشت بود. سپس بوته‌های هر کیسه به همراه ریشه به‌طور کامل جدا شده و پس از شستشوی ریشه‌ها نسبت به شمارش تعداد گره‌ها اقدام شد. وزن خشک گره‌ها نیز بعد از قرارگیری در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تعیین شد (Seyed Sharifi, 2016).

به منظور تعیین مؤلفه‌های پُرشدن دانه، ۱۲ روز بعد از تشکیل غلاف و شروع دوره پُرشدن دانه در داخل هر واحد آزمایشی تعدادی بوته به ظاهر مشابه و یکنواخت با نخ رنگی انتخاب و علامت‌گذاری شد. سپس در فواصل زمانی هر پنج روز یک‌بار، دو بوته مشابه و به ظاهر یکنواخت از بین بوته‌های انتخابی قبلی، به طور تصادفی از بین بوته‌های رقابت‌کننده در هر مرحله از نمونه‌برداری انتخاب و پس از انتقال به آزمایشگاه، ابتدا دانه‌ها جدا شده و سپس وزن خشک تک‌بذر از محاسبه وزن خشک کل به تعداد بذر برآورد شد (Ronanini *et al.*, 2004). به منظور برآورد، تجزیه و تحلیل و تفسیر عوامل مربوط به پُرشدن دانه از یک مدل رگرسیون خطی دو تکه‌ای براساس رویه DUD و دستورالعمل Proc Nlin نرم‌افزار SAS به صورت زیر استفاده شد.

رابطه (۱)
$$GW = \begin{cases} a + bt_0 & t<t_0 \\ a + bt & t>t_0 \end{cases}$$

در این رابطه، GW وزن دانه،t زمان، b سرعت پُرشدن دانه، t_0 پایان دوره پُرشدن دانه و a عرض از مبدأ است. این مدل تغییرات وزن دانه نسبت به زمان را به دو مرحله تفکیک می‌کند: مرحله اول که در حقیقت مرحله خطی پُرشدن دانه است؛ وزن دانه تا رسیدن به حداکثر مقادیر خود در زمان t_0 که در حقیقت زمان رسیدگی وزنی است، به صورت خطی افزایش پیدا می‌کند. شیب خط رگرسیون در این مرحله ($t < t_0$) سرعت پُرشدن دانه را نشان می‌دهد. با برازش این مدل بر کلیه داده‌ها ابتدا دو پارامتر مهم پُرشدن دانه یعنی سرعت پُرشدن دانه (b) و زمان رسیدگی وزنی (t_0) به دست آمده و سپس مقدار عددی t_0 در قسمت دوم رابطه ۱ قرار داده شد و GW که وزن دانه است، محاسبه شد. برای تعیین دوره مؤثر پُرشدن دانه از رابطه زیر استفاده شد (Pieta-Filho & Ellis, 1992):

رابطه (۲)
$$EFP = MGW/b$$

در این رابطه EFP[۱] دوره مؤثر پُرشدن دانه، MGW[۲] حداکثر وزن دانه و b سرعت پُرشدن دانه (گرم در روز) است.

برای اندازه‌گیری شاخص سبزینگی، در هر واحد آزمایشی دو بوته و در هر بوته از چهار برگ انتهایی کاملاً توسعه یافته شاخص سبزینگی توسط دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD-502، مینولتای ژاپن) قرائت و میانگین داده‌های حاصل به عنوان ارزش آن صفت در تجزیه داده‌ها به کار گرفته شد. برای برآورد تعداد دانه در غلاف و غلاف در بوته در خطوط اصلی هر کرت با رعایت اثر حاشیه هشت بوته به صورت تصادفی و از بین بوته‌های رقابت‌کننده برداشت و میانگین داده‌های حاصل به عنوان ارزش آن صفت در تجزیه واریانس مورد استفاده قرار گرفت. عملکرد دانه با برداشت از سطحی معادل یک متر مربع از خطوط اصلی هر کرت بعد از حذف اثر حاشیه‌ای برآورد شد. برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SAS 9.1 و Excel 2007استفاده شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح آبیاری، متانول و کودهای زیستی و اثر ترکیب تیماری این سه عامل بر عملکرد دانه، شاخص سبزینگی، مؤلفه‌های پُرشدن دانه (سرعت، طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه) و برخی دیگر از صفات مانند تعداد و وزن گره معنی‌دار بود (جدول ۱). تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر سطوح آبیاری در سطح احتمال پنج‌درصد و تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر سطوح آبیاری، متانول و کودهای زیستی در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار شد.

مؤلفه‌های پُرشدن دانه: نتایج نشان داد که الگوی نمو بذر در تمامی عوامل مورد بررسی از روند مشابهی برخوردار بود (شکل۱). بدین ترتیب که ابتدا وزن دانه به صورت خطی افزایش یافت و به حداکثر خود رسید و پس از آن، از تغییرات چندانی برخوردار نبود و به صورت یک خط افقی درآمد. حداکثر وزن دانه در شرایط آبیاری کامل با استفاده از مقادیر بالای متانول (۳۰ درصد حجمی) و کاربرد مزوریزوبیوم سیسری با سودوموناس و میکوریز و حداقل این مقدار در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی به دست آمد (جدول۳) که از اختلاف ۸۴/۴۶ درصدی نسبت به یکدیگر برخوردار بودند. در این راستا برخی محققان (Ramberg *et al.*, 2002) معتقدند محتوای کلروفیل بواسطه کاربرد متانول افزایش می‌یابد، ضمن آن‌که دی‌اکسیدکربن حاصل از اکسیداسیون سریع متانول با افزایش غلظت این ماده در بافت‌های فتوسنتزکننده، موجب افزایش فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو، افزایش سرعت و میزان فتوسنتز و کاهش تنفس نوری شده و به تبع آن، میزان فتوسنتز و وزن دانه افزایش می‌یابد (Gout *et al.*, 2000). بخشی از افزایش وزن دانه در شرایط آبیاری کامل و کاربرد سطوح بالای متانول و کودهای زیستی می‌تواند ناشی از بهبود مؤلفه‌های پُرشدن دانه (سرعت، طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه) و شاخص سبزینگی در چنین ترکیبات تیماری باشد (جدول ۳)؛ به‌طوری که مقایسه میانگین‌ها نشان داد، شاخص سبزینگی، سرعت، طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه، به‌ترتیب از افزایش ۸۴/۱۷، ۳۴/۴۸، ۲۱/۳۸و ۲۵/۳ درصدی در شرایط آبیاری کامل، سطوح بالای متانول (۳۰ درصد حجمی) و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس در مقایسه با قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی برخوردار بود (جدول ۳). نتایج این بررسی با نتایج پژوهش‌های دیگر محققان مبنی بر این‌که تنش‌های محیطی با کاهش طول دوره پُرشدن دانه، به طور معنی‌داری وزن نهایی دانه را کاهش می‌-دهند، مطابقت دارد (Khalilzadeh *et al.*, 2018). برخی کاهش دوره پُرشدن دانه تحت شرایط محدودیت آبی را به توقف عرضه مواد فتوسنتزی، کاهش محتوای آب دانه و یا توقف فعالیت متابولیکی مخزن نسبت داده‌اند (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2010). Tsuno *et al*, (1994) اظهار داشتند که افزایش میزان کلروفیل در طول دوره رشد به ویژه دوره پُرشدن دانه، به دلیل تاخیر در پیری برگ، موجب افزایش مؤلفه‌های پُرشدن دانه می‌شود. Egamberdiyeva (2007) تأثیر مثبت کودهای زیستی در بهبود رشد گیاهان را به جوانه‌زنی زودتر بذر، استقرار بهتر گیاهچه و افزایش رشد گیاهان در شرایط تلقیح نسبت دادند. در تمامی ترکیب‌های تیماری، بین کاربرد متانول و تلقیح بذر با کودهای زیستی در سطوح ثابت از آبیاری، از نظر دوره مؤثر پُرشدن، سرعت و طول دوره پُرشدن دانه تفاوت‌هایی وجود داشت. به بیانی دیگر شیب خط برازش‌شده یا سرعت پُرشدن دانه در ترکیبات مختلف تیماری یکسان نبود که حاکی از تفاوت در سرعت پُرشدن دانه می‌باشد. از آنجا که فراهمی اسیمیلات‌ها یک عامل مهم برای دوره مؤثر پُرشدن دانه محسوب می‌شود، لذا به نظر می‌رسد کاربرد متانول، به دلیل افزایش میزان اسیمیلاسیون و نقل و انتقال مواد به دانه، موجب می‌شود سرعت پُرشدن دانه افزایش یابد.

---
۱. Effective Grain Filling Period

۲. Maximum of Grain Weight

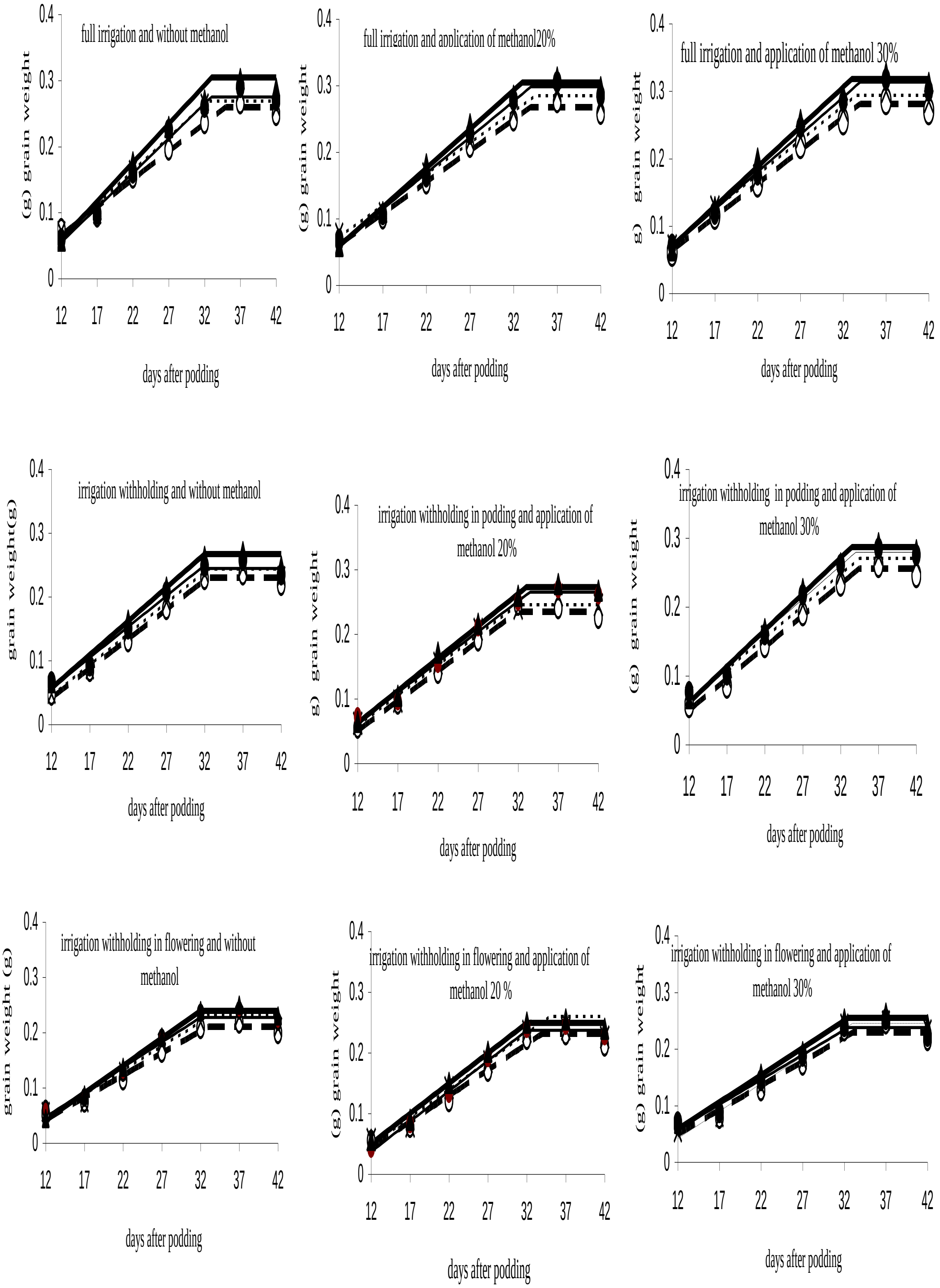
جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر سطوح آبیاری، متانول و کودهای زیستی بر شاخص سبزینگی، مولفه های پر شدن دانه و برخی صفات نخود

Table 1.- Analysis of variance the effects of irrigation levels, methanol application and bio fertilizers on chlorophyll index, grain filling components and some chickpea traits

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات M.S									
		حداکثر وزن تک دانه Maximum of Grain Weight	سرعت پر شدن Rate Grain Filling	طول دوره پر شدن Grain Filling Period	دوره موثر پر شدن دانه Effective Grain Filling Period	شاخص سبزینگی Chlorophyll Index	تعداد گره در بوته Number of Nodule per Plant	وزن خشک گره Weight of Nodules per Plant	دانه در غلاف Seed per Pod	غلاف در بوته Pod per Plant	عملکرد دانه Grain Yield
Replication تکرار	2	**0.0932	0.000135**	1816.22**	987.66**	346.87**	90.17**	7.93**	0.449	309.29**	76198.17**
سطوح آبیاری Irrigation Levels	2	0.0249**	0.000013**	319.94**	42.64**	1227.62**	2.30**	0.93**	0. 18*	275.59**	1293372.5**
کودهای زیستی Bio fertilizers	2	0.00618**	0.00000083**	6.89**	29.118**	215.74**	10.43**	28.13**	0.077ns	213.89**	183565**
Methanol متانول	3	0.00551**	0.0000125**	1.73**	4.54**	19.33**	263.15**	194.41**	0.053 ns	256.95**	175365.7**
آبیاری × کودهای زیستی Irrigation × Bio fertilizers	4	0.00068**	0.00000096*	5.24**	2.801**	27.08**	0.928**	0.009	0.053 ns	1.677 ns	16966.5**
آبیاری × متانول Irrigation × Methanol	6	0.00063**	0.0000009*	1.44**	9.87**	1.33**	0.87**	0.029	0.054 ns	2.321 ns	296.24**
متانول × کودهای زیستی Biofertilizers × Methanol	6	0.00076**	0.0000003*	1.28**	8.476**	1.81**	0.46ns	0.711**	0.0361 ns	2.490 ns	236.2**
آبیاری × متانول × کودهای زیستی Biofertilizers × Methanol × Irrigation	12	0.00074**	0.00000042**	1.25**	10.075**	1.04**	0.56**	0.075*	0.066	1.207 ns	392.6**
Error خطای آزمایشی	70	0.0000376	0.00000003	0.27	0.152	0.38	0.25	0.04	0.052	1.365	64.5

ns، * و** به ترتیب غیر معنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

Ns, * and ** are non-significant, significant at P≤0.05 and P≤0.01 respectively


full irrigation and without methanol
full irrigation and application of methanol20%
full irrigation and application of methanol 30%
irrigation withholding and without methanol
irrigation withholding in podding and application of methanol 20%
irrigation withholding in podding and application of methanol 30%
irrigation withholding in flowering and without methanol
irrigation withholding in flowering and application of methanol 20 %
irrigation withholding in flowering and application of methanol 30%
grain weight (g)
days after podding
0
0.1
0.2
0.3
0.4
12
17
22
27
32
37
42

همچنین تلقیح بذر با کودهای زیستی نسبت به عدم تلقیح بذر موجب افزایش طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه شد؛ به‌طوری‌که سرعت، طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه، به‌ترتیب از افزایش ۳۴/۴۸، ۲۱/۳۸ و ۲۵/۳ درصدی در شرایط آبیاری کامل، سطوح بالای متانول (۳۰ درصد حجمی) و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس در مقایسه با قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی برخوردار بود (جدول ۳). نتایج مشابهی نیز مبنی بر افزایش ۸۴/۱۷ درصدی در شاخص سبزینگی در همین ترکیبات تیماری بدست آمد (جدول ۳).

تعداد دانه در غلاف: تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر سطوح آبیاری در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). تعداد دانه در غلاف در حالت آبیاری کامل از افزایش ۶/۶درصدی در مقایسه با آبیاری تا مرحله گلدهی برخوردار بود (جدول ۲). اثر کودهای زیستی و محلول‌پاشی با متانول بر تعداد دانه در غلاف معنی‌دار نشد. برخی از محققان تأثیرپذیری تعداد دانه در نیام نخود را در تلقیح بذر با باکتری رایزوبیوم (Ahmed *et al.*, 2007) گزارش کرده‌اند که با نتایج به‌دست آمده از این آزمایش مغایرت دارد. تأثیرنداشتن معنی‌دار تیمارهای مورد مطالعه بر تعداد دانه در نیام می‌تواند به‌دلیل تأثیرپذیری بیشتر این صفت از ویژگی‌های ژنتیکی و تأثیرپذیری کمتر آن از شرایط محیطی باشد.

جدول۲- تأثیر سطوح آبیاری، کاربرد متانول و کودهای زیستی بر تعداد غلاف در بوته و دانه در غلاف نخود

Table 2. Effects of irrigation levels, methanol application and bio fertilizers on pod per plant and seed per pod of chichpea

سطوح آبیاری **Irrigation levels**	غلاف در بوته **Pod per plant**	دانه در غلاف **Seed per pod**
قطع آبیاری در مرحله گلدهی Irrigation withholding in flowering stage	15.39[c]	2.091b
قطع آبیاری در مرحله پُرشدن دانه Irrigation withholding in grain filling stage	18.03[b]	2.16[ab]
آبیاری کامل Full irrigation	20.93[a]	2.23[a]
سطوح متانول **methanol levels**		
محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد Foliar application with water as control	15.62[c]	-
کاربرد ۲۰ درصد متانول Application of methanol 20%	18.23[b]	-
کاربرد ۳۰ درصد متانول Application of methanol 30%	20.5[a]	-
کودهای زیستی **Bio fertilizers**		
عدم استفاده به‌عنوان شاهد Without biofertilizers as control	14.15[d]	-
کاربرد ریزوبیوم Rhizobium application	17.47[c]	-
کاربرد توأم میکوریز و ریزوبیوم Both application of mycorhyza+ rhizobium	19.5[b]	-
کاربرد ریزوبیوم با سودوموناس و میکوریز Both application of mycorhyza+ rhizobium+psedomonas	21.36[a]	-

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different.

تعداد غلاف در بوته: تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر سطوح آبیاری، کودهای زیستی و متانول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد غلاف در بوته در شرایط آبیاری کامل و کمترین آن در قطع آبیاری در مرحله گلدهی به دست آمد. به بیانی دیگر قطع آبیاری در مرحله گلدهی در مقایسه با آبیاری کامل منجر به کاهش ۳۲/۴ درصدی غلاف در بوته شد. به نظر می‌رسد در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی، محدودیت تولید مواد فتوسنتزی مورد نیاز برای بقاء گل و غلاف در اواخر مرحله گلدهی، عقیم‌شدن گل‌ها و ریزش آن‌ها دلیل اصلی کاهش تعداد غلاف در بوته تحت چنین شرایطی باشد. Rahman & Uddin (2000) نیز در ارزیابی عملکرد ژنوتیپ‌های مختلف

نخود تحت تنش خشکی گزارش نمودند که محدودیت آبی موجب کاهش تعداد غلاف در بوته در تمامی ژنوتیپ‌های مورد بررسی شد. کاربرد سطوح بالای متانول نیز منجر به افزایش ۳۱/۲ درصدی تعداد غلاف در بوته نخود در مقایسه با عدم کاربرد این ماده شد. برخی محققان بیان کردند که تلقیح موجب افزایش ۴/۲۸ درصدی تعداد نیام در بوته ماشک در مقایسه با عدم تلقیح با باکتری ریزوبیوم شد (Albayrak *et al.*, 2006). برخی گزارش کردند که تعداد غلاف در بوته‌های تلقیح‌شده نخود به‌طور معنی‌داری بالاتر از بوته‌های تلقیح‌نشده بود (Ahmed *et al.*, 2007). در این راستا Togay *et al*, (2008) دلیل افزایش تعداد نیام پر در تلقیح بذر با باکتری رایزوبیوم را به تأمین مواد غذایی بیشتر، به‌ویژه نیتروژن و در نتیجه رشد بهتر گیاهان تلقیح‌شده با باکتری رایزوبیوم در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده نسبت دادند.

جدول ۳- اثر سطوح آبیاری، متانول و کودهای زیستی بر مؤلفه‌های پُرشدن دانه نخود

Table 3. Effects of irrigation levels, methanol and bio fertilizers on grain filling period of chichpea

تیمارها **Treatments**	حداکثر وزن دانه (گرم) **Maximum of grain weight (g)**	سرعت پُرشدن دانه (گرم در روز) **Grain filling rate (g/day)**	طول دوره پُرشدن دانه (روز) **Grain filling period (day)**	دوره مؤثر پُرشدن دانه (روز) **Effective grain filling period (day)**	شاخص سبزینگی **Chlorophyll index**	تعداد گره در بوته **Number of nodule per plant**	وزن خشک گره (میلی‌گرم) **Weight of nodules per plant (mg)**	عملکرد دانه (تن در هکتار) **Grain yield (kg/ha)**
$I_1 \times M_1 \times B_1$	0.253^{gh}	0.0084^{q}	37.7^{de}	23.9^{p}	40.4^{fg}	4.42^{jk}	5.99^{o}	1048^{m}
$I_1 \times M_1 \times B_2$	0.256^{fg}	0.0101^{ef}	38.3^{bcd}	25^{nq}	40.4^{fg}	9.83^{fgh}	10.43^{kl}	1155^{i}
$I_1 \times M_1 \times B_3$	0.273^{cd}	0.0105^{d}	38^{cd}	26^{khij}	42^{e}	10.32^{defg}	11.03^{hi}	1182^{h}
$I_1 \times M_1 \times B_4$	0.276^{c}	0.011^{bc}	38.56^{bcd}	28.2^{d}	42.5^{de}	10.81^{abcde}	11.43^{fg}	1207^{g}
$I_1 \times M_2 \times B_1$	0.266^{de}	0.00941^{jklm}	38.8^{abc}	25.3^{mnlo}	42^{e}	4.91^{j}	6.59^{n}	1112^{k}
$I_1 \times M_2 \times B_2$	0.273^{cd}	0.0094^{klm}	38^{cd}	25.9^{ijkl}	42.1^{e}	10.03^{efg}	11.08^{h}	1252^{f}
$I_1 \times M_2 \times B_3$	0.280^{c}	0.0108^{c}	38.6^{bc}	29.0^{c}	42.9^{de}	10.52^{cdef}	11.63^{ef}	1267^{e}
$I_1 \times M_2 \times B_4$	0.280^{c}	0.011^{a}	39.1^{ab}	29.2^{b}	43.3^{d}	10.81^{abcde}	12.34^{c}	1296^{d}
$I_1 \times M_3 \times B_1$	0.266^{de}	0.0099^{fgh}	38.6^{bcd}	25.2^{mno}	46.1^{c}	3.93^{kl}	7.19^{m}	1246^{f}
$I_1 \times M_3 \times B_2$	0.280^{c}	0.0102^{e}	38.4^{bcd}	26.8^{efg}	47^{bc}	10.81^{abcde}	12.35^{c}	1365^{c}
$I_1 \times M_3 \times B_3$	0.293^{b}	0.0111^{a}	38.7^{bc}	28.7^{cd}	47.8^{b}	11.01^{abcd}	13.32^{a}	1417^{b}
$I_1 \times M_3 \times B_4$	0.380^{a}	0.0117^{a}	39.5^{a}	32.2^{a}	50.2^{a}	11.44^{a}	13.21^{a}	1455^{a}
$I_2 \times M_1 \times B_1$	0.221^{jk}	0.00919^{mn}	34.6^{ijk}	24^{p}	37.1^{m}	3.93^{kl}	5.94^{o}	882^{t}
$I_2 \times M_1 \times B_2$	0.233^{i}	0.00969^{ghij}	34.6^{ijk}	24^{p}	37.5^{lm}	9.04^{hi}	10.34^{l}	1028^{n}
$I_2 \times M_1 \times B_3$	0.256^{fg}	0.00965^{ijkh}	34.2^{k}	26.5^{efghi}	38.4^{kl}	9.63^{gh}	10.93^{ijh}	1040^{m}
$I_2 \times M_1 \times B_4$	0.263^{ef}	0.0105^{d}	34^{k}	25^{no}	38.4^{kl}	10.32^{defg}	11.43^{fg}	1076^{l}
$I_2 \times M_2 \times B_1$	0.233^{i}	0.00923^{mn}	34.5^{jk}	25.2^{mno}	38.5^{jkl}	3.34^{l}	6.54^{n}	924^{rs}
$I_2 \times M_2 \times B_2$	0.253^{gh}	0.00936^{lm}	34.6^{ijk}	27.02^{ef}	39^{ijk}	10.54^{cdef}	10.98^{ijh}	1050^{m}
$I_2 \times M_2 \times B_3$	0.256^{fg}	0.0094^{ijklm}	35.9^{gh}	27.1^{e}	39.2^{hijk}	10.81^{abcde}	11.52^{fg}	1064^{l}
$I_2 \times M_2 \times B_4$	0.266^{de}	0.01^{ef}	35.3^{hi}	26.6^{efgh}	39.4^{ghij}	11.4^{ab}	12.23^{cd}	1072^{l}
$I_2 \times M_3 \times B_1$	0.246^{h}	0.00915^{mn}	36.6^{fg}	26.8^{efgh}	39.2^{hijk}	4.42^{jk}	7.13^{m}	955^{q}
$I_2 \times M_3 \times B_2$	0.263^{ef}	0.00919^{mn}	36.9^{ef}	28.6^{cd}	40.04^{fghi}	10.62^{bcdef}	12.24^{cd}	1107^{k}
$I_2 \times M_3 \times B_3$	0.273^{cd}	0.0097^{ghi}	36.5^{fg}	28.1^{d}	40.2^{fgh}	11.31^{abc}	13.21^{a}	1129^{j}
$I_2 \times M_3 \times B_4$	0.276^{c}	0.0105^{d}	36.2^{fg}	26.2^{ghij}	40.7^{f}	11.4^{ab}	13.1^{a}	11423^{ij}
$I_3 \times M_1 \times B_1$	0.206	0.0087^{r}	32.6^{lm}	25.7^{jklm}	27.3^{t}	3.44^{l}	5.32^{p}	693^{x}
$I_3 \times M_1 \times B_2$	0.223^{k}	0.0086^{pq}	32.1^{lm}	25.1^{mno}	27.3^{t}	8.55^{i}	10.11^{l}	830^{v}
$I_3 \times M_1 \times B_3$	0.230^{jk}	0.009^{no}	32^{m}	24.7^{o}	29.8^{s}	9.04^{hi}	10.68^{jk}	847^{u}
$I_3 \times M_1 \times B_4$	0.231^{ij}	0.00993^{efgh}	32^{m}	23.1^{q}	31.0^{r}	10.32^{defg}	11.75^{ef}	876^{t}
$I_3 \times M_2 \times B_1$	0.223^{kj}	0.00854^{pq}	31.9^{m}	23.6^{pq}	32.2^{q}	4.72^{jk}	6.38^{n}	747^{w}
$I_3 \times M_2 \times B_2$	0.233^{i}	0.00924^{mn}	32.7^{lm}	25.2^{mno}	33.0^{pq}	9.08^{hi}	10.73^{ijk}	884^{t}
$I_3 \times M_2 \times B_3$	0.236^{i}	0.01^{ef}	32^{m}	26.1^{hijk}	33.4^{p}	9.54^{gh}	11.27^{gh}	9127^{s}
$I_3 \times M_2 \times B_4$	0.236^{i}	0.0099^{efg}	35.2^{hij}	23.7^{pq}	33.4^{p}	10.81^{abcde}	11.96^{de}	932^{r}
$I_3 \times M_3 \times B_1$	0.230^{ij}	0.00854^{pq}	32.7^{lm}	26.9^{ef}	33.9^{op}	4.91^{j}	6.97^{m}	819^{v}
$I_3 \times M_3 \times B_2$	0.233^{i}	0.00969^{ghij}	32.9^{l}	24^{p}	34.7^{no}	10.13^{efg}	11.96^{de}	959^{q}
$I_3 \times M_3 \times B_3$	0.233^{i}	0.00879^{po}	32.4^{lm}	26.5^{fghi}	35.5^{n}	11.01^{abcd}	13.01^{ab}	9748^{p}
$I_3 \times M_3 \times B_4$	0.246^{h}	0.0096^{ijkl}	32.5^{lm}	25.6^{klmn}	35.6^{n}	11.60^{a}	12.7^{ab}	992^{o}
LSD	0.01	0.0003	0.847	0.635	1.01	0.819	0.334	13.07

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند.

I_1، I_2، I_3: به‌ترتیب آبیاری کامل و قطع آبیاری در مرحله پُرشدن دانه و قطع آبیاری در مرحله گلدهی

B_1، B_2، B_3، B_4: به‌ترتیب عدم استفاده از کودهای زیستی، کاربرد ریزوبیوم، کاربرد میکوریز و ریزوبیوم، و کاربرد ریزوبیوم با سودوموناس و میکوریز

M_1، M_2، M_3: به ترتیب عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۲۰ درصد و ۳۰ درصد حجمی متانول

Means with similar letters in each column are not significantly different.

I_1, I_2 and I_3: full irrigation, irrigation withholding at flowering stage and irrigation withholding at grain filling stage, respectively

B_1, B_2, B_3 and B_4: without biofertilizers as control, rhizobium application, both application of mycorhyza+ rhizobium, both application of mycorhyza+ rhizobium+pseudomonas, respectively

M_1, M_2 and M_3: no foliar application, foliar application of methanol 20% and 30%, respectively

تعداد و وزن گره: تعداد و وزن گره تحت تأثیر سطوح آبیاری، کودهای زیستی، متانول و اثر ترکیب تیماری این سه عامل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). تعداد گره در بوته در شرایط آبیاری کامل، محلول‌پاشی ۳۰ درصد متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس از افزایش ۲۳۲درصدی در مقایسه با قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی برخوردار بود (جدول ۳). در آزمایشی روی نخود گزارش شد که رشد ریشه و بخش هوایی و نیز میزان گره‌بندی نخود در حضور باکتری رایزوبیوم مناسب افزایش می‌یابد (Dileep Kumar *et al.*, 2001). Hafeez *et al*, (2000) در بررسی میزان گره‌بندی ارقام عدس (*Lens culinaris*) توسط سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم نشان دادند که سویه‌های باکتری اثر معنی‌داری بر تعداد و وزن خشک گره نشان دادند. Vessey & Buss (2002) معتقدند تأثیر مواد تنظیم‌کننده رشد تولیدشده به‌وسیلهPGPR بر رشد ریشه لگوم‌ها از طریق مؤلفه‌هایی بروز می‌کند که مهم‌ترین آن‌ها افزایش وزن و تعداد گره می‌باشند. نتایج برخی محققان نشان داد، رشد ریشه و بخش هوایی و نیز میزان گره‌بندی نخود در حضور باکتری رایزوبیوم مناسب افزایش می‌یابد (Egamberdiyeva 2007). نتایج مشابهی نیز در مورد تعداد و وزن خشک گره‌ها تحت تأثیر تلقیح با باکتری رایزوبیوم در نخود توسط Begum *et al*, (2001) گزارش شده است. بررسی‌ها در نخود (Rudresh *et al.*, 2005) و سویا (Malik *et al.*, 2006) نشان داد تیمارهای تلقیح‌شده با باکتری رایزوبیوم از بالاترین تعداد و وزن خشک گره‌ها، وزن خشک اندام هوایی، درصد نیتروژن در بافت و نیتروژن تثبیتی نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) برخوردار بودند.

وزن گره: مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین وزن خشک گره در بوته (۱۳/۳۲ میلی‌گرم در بوته) در ترکیب تیماری آبیاری کامل در طول دوره رشد، محلول‌پاشی ۲۰ درصد متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم به دست آمد که با ترکیب تیماری آبیاری کامل در طول دوره رشد، محلول‌پاشی ۲۰درصد متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نداشت (جدول۳). کمترین وزن گره نیز به قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی مربوط می شد. از آنجا که در مزرعه مورد کشت در طی دو سال قبل از اجرای آزمایش نیز گیاهی کشت نشده بود، از این رو به نظر می‌رسد تعداد و تراکم باکتری‌های ریزوبیومی و محرک رشدی در شرایط عدم کاربرد کودهای زیستی در حدی نبوده است که بتواند در بهبود تعداد و وزن گره مؤثر واقع شود؛ ولی وزن و تعداد گره‌ها در تیمارهایی که از ریزوبیوم و باکتری محرک رشدی سودوموناس استفاده نشده بود، در مقایسه با استفاده از کودهای زیستی از کاهش قابل‌توجهی برخوردار بود (جدول ۳). آبیاری کامل و محلول‌پاشی ۳۰درصدی متانول در کاربرد میکوریز و تلقیح توأم بذر با ریزوبیوم و سودوموناس منجر به افزایش بیش از ۲/۴ برابری وزن گره در مقایسه با قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی شد (جدول ۳). Egamberdiyeva (2007) گزارش کرد که رشد ریشه و بخش هوایی و نیز میزان گره‌بندی نخود در حضور باکتری رایزوبیوم مناسب افزایش می‌یابد. نتایج مشابهی نیز در مورد تعداد و وزن خشک گره‌ها تحت تأثیر تلقیح با باکتری رایزوبیوم در نخود توسط Begum *et al*, (2001) و Stancheva *et al*, (2010) گزارش شده است.

عملکرد دانه: مقایسه میانگین‌ها نشان داد که عملکرد دانه افزایش ۱۱۱ درصدی را در شرایط آبیاری کامل و بالاترین سطح از محلول‌پاشی با متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس در مقایسه با قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی، نشان می دهد (جدول ۳). با توجه به این‌که نخود گیاهی سه‌کربنه است، در شرایط محدودیت آبی (به خصوص قطع آبیاری در مرحله گلدهی) به علت کاهش غلظت CO_2 و افزایش اکسیژن، تنفس نوری انجام می‌دهد. تنفس نوری می‌تواند تا ۲۰ درصد موجب اتلاف کربن در گیاهان شده و در نهایت به کاهش عملکرد منجر شود (Mirakhori *et al.*, 2009)؛ ولی گیاهان تیمارشده با متانول می‌توانند فتوسنتز خالص خود و متعاقب آن راندمان تبدیل کربن در گیاه را بهبود بخشند (Nonomura & Benson, 1992). آنان علت افزایش فتوسنتز خالص و کاهش تنفس نوری در گیاهان تیمارشده با متانول را به اکسیداسیون سریع متانول به CO_2 و ترکیب‌شدن آن با ریبولوز ۱ و ۵ بی فسفات و کم‌شدن رقابت با اکسیژن نسبت دادند. آن‌ها همچنین اظهار داشتند که متانول موجب افزایش فشار آماس سلول در برگ‌ها می‌شود که به رشد و توسعه برگ نیز کمک می‌کند. بخشی از بهبود عملکرد دانه را می‌توان به تأثیر فاکتورهای مورد بررسی بر تعداد و وزن گره نسبت داد؛ به طوری‌که بیشترین تعداد و وزن گره به همان ترکیب تیماری مربوط می‌شد که بیشترین عملکرد به‌دست آمده بود. در این راستا Malik *et al.*, (2006) اظهار داشتند که تثبیت بیولوژیک نیتروژن به وسیله لگوم‌ها، به عنوان یک صفت مهم در بهبود عملکرد به تلقی می‌شود و اعتقاد بر این است که ۲۵

تا ۷۵ درصد نیتروژن مورد نیاز لگوم هایی مانند سویا از طریق تثبیت تأمین می‌شود؛ ولی برای افزایش کارآیی تثبیت بیولوژیک، تلقیح بذر با استفاده از میکروارگانیزم‌های مفید خاکزی از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه لازم است (Togay *et al.*, 2008). برخی (Dashti *et al.*, 1998) بالاترین میزان تجمع نیتروژن و عملکرد دانه سویا در شرایط تلقیح با باکتری ریزوبیوم جاپونیکوم را به تأثیر این باکتری‌ها بر تعداد و وزن گره‌های فعال تثبیت‌کننده نیتروژن نسبت دادند. برخی محققان در بررسی تأثیر رایزوبیوم لگومینوزاروم بر نخود و عدس نشان دادند که این باکتری، عملکرد، تجمع ماده خشک و گره‌بندی را در این گیاهان به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Begum *et al.*, 2001). برخی افزایش میزان رشد و عملکرد نخود تحت تأثیر تلقیح با باکتری رایزوبیوم را به افزایش تأمین نیتروژن طی دوره رشد گیاه نسبت دادند (Rudresh *et al.*, 2005). برخی معتقدند که باکتری‌های محرک رشد به‌وسیله ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل‌دسترس‌ساختن آن‌ها، افزایش حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی موجب افزایش رشد گیاه می شوند (Roesti *et al.*, 2006). بخشی از بهبود عملکرد دانه را می‌توان به مؤلفه‌های پُرشدن دانه و شاخص سبزینگی نسبت داد (جدول ۳)؛ همان ترکیب‌های تیماری که موجب شده است تا طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه افزایش و به تبع از آن وزن دانه و عملکرد افزایش یابد. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی با متانول با افزایش محتوای کلروفیل (جدول ۳) و دسترسی گیاه به CO_2 منجر به کاهش تنفس نوری (Benson and Nonomera, 1992) و بهبود فتوسنتز می‌شود. افزایش کلروفیل می‌تواند با به‌تأخیرانداختن پیری (Heins, 1980)، افزایش میزان آسیمیلاسیون و طول دوره پُرشدن دانه موجب افزایش دوره فعال فتوسنتری و انتقال بیشتر مواد به دانه شده و در نهایت منجر به افزایش عملکرد شود (Goksoy *et al.*, 2004).

نتیجه‌گیری

محلول‌پاشی متانول و تلقیح بذر با کودهای زیستی تأثیر معنی‌داری بر شاخص سبزینگی و مؤلفه‌های پُرشدن دانه داشت. هرچند با افزایش محدودیت آبی شاخص سبزینگی کاهش پیدا کرد، ولی استفاده از متانول و کودهای زیستی موجب بهبود آن شد. کاربرد متانول و کودهای زیستی در شرایط آبیاری کامل و قطع آبیاری در مرحله گلدهی، موجب تولید بالاترین شاخص سبزینگی و مؤلفه‌های پُرشدن دانه (اعم از سرعت، طول دوره و دوره مؤثر پُرشدن دانه) گردید. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی با متانول و تلقیح بذر با کودهای زیستی می‌تواند به عنوان یک روش مناسب برای بهبود عملکرد نخود حتی در شرایط محدودیت شدید آبی در مناطق خشک و نیمه خشک مطرح باشد.

منابع

1. Abido, WAE. 2012. Sugar beet productivity as affected by foliar spraying with methanol and born. Journal of Agricultural Science 4(7): 282-292.
2. Ahmed, R., Solaiman, M., Halder, N.K., Siddiky, M.A., and Islam, M.S. 2007. Effect of inoculation methods of Rhizobium on yield attributes, yield and protein content in seed of pea. Soil Science 1(3): 30-35.
3. Albayrak, S., Sevimay, C.S., and Tongel, O. 2006. Effect of inoculation with rhizobium on seed yield and yield components of common vetch (*Vicia sativa* L.). Turkish Journal of Agriculture Forestry 30: 31-37.
4. Amiri Deh Ahmadi, S.R., Parsa, M., Nezami, A., and Ganjeali, A. 2011. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. Iranian Journal of Pulses Research 1(2): 69-84. (In Persian with English Summary).
5. Armand, N., Amiri, H., and Ismaili, A. 2016. The effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought stress condition. Iranian Journal of Field Crops Research 13(4): 854-863. (In Persian with English Summary).
6. Begum, A.A, Leibovitch, S., Migner, P., and Zhang, F. 2001. Inoculation of pea (*Pisum sativum* L.) by *Rhizobium leguminosarum* bv. viceae pre incubated with naringenin and hesperetin or application of naringenin and hesperetin directly into soil increased pea nodulation under short season conditions. Plant and Soil 237: 71-80.
7. Benson, A.A., and Nonomera, A.M. 1992. The path of carbon in photosynthesis: methanol inhibition of glycolic acid accumulation. Photosynthetica Research 34: 196-201.

8. Dashti, N., Zhang, F., Rynes, H., and Smith, D.L. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean (*Glycine max* L.) under short season conditions. Plant and Soil 200: 205-213.
9. Dawood, M.G., El-Lethy, S.R., and Sadak, M.S. 2013. Role of methanol and yeast in improving growth, yield, nutritive value and antioxidants of soybean. World Applied Sciences Journal 26(1): 6-14.
10. Dileep Kumar, S.B., Berggren, I., and Martensson, A.M. 2001. Potential for improving pea production by coinoculation with Fluorescent Pseudomonas and Rhizobium. Plant and Soil 229(1): 25-34.
11. Dorkhov, Y.L., Shindypina, A.V., Sheshukova, E.V., and Komarova, T.V. 2015. Metabolic methanol: molecular pathway and physiological roles. Physiological Reviews 95: 603-644.
12. Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. Applied Soil and Ecology 36: 184-190.
13. Ellis, R.H., and Pieta-Filho, C. 1992. The development of seed quality spring and winter cultivars of barley and wheat. Seed Science Research 2: 19-25.
14. Ghassemi-Golezani, K., Chadordooz-zeddi, A., Nasrollahzadeh, S., and Moghaddam, M. 2010. Effects of hydropriming duration on seedling vigour and grain yield of pinto bean (*Phaseous vulgaris* L.) cultivars. Notulae Botanicae Hori Agrobotanici Cluj-Napoca 38: 109-113.
15. Goksoy, A.T., Demir, A.O., Turan, Z.M., and Daustu, N. 2004. Responses of sunflower to full and limited irrigation at different growth stages. Field Crop Research 87: 167-178.
16. Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., Nonomura, A.R., Benson, A., and Douce, R. 2000. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. Plant Physiology 123: 287-296.
17. Hadi, H., Seyed Sharifi, R., and Namvar, A. 2015. Phytoprotectants and Abiotic Stress. Urmia University. 452 pp. (In Persian).
18. Hafeez, F.Y., Shah, H., and Malik, K.A. 2000. Field evalution of lentil cultivars inoculated with *Rhizobium legominuzarom* bv.viciate strains for nitrogen fixation using nitrogen-15-isotope dillut. Biology and Fertility of Soils 31: 65-69.
19. Heins. R. 1980. Inhibition of ethylene synthesis and senescence in carnation by ethanol. American Society and Horticultural Science 105(1): 141-144.
20. Khalilzadeh, R., Seyed Sharifi, R., and Jalilian, J. 2018. Growth, physiological status and yield of salt-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) plants as affected by application of bio fertilizer and cycocel. Arid Land Research and Management 32: 1-21.
21. Lawlor, D.W., and Cornic, G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant, Cell and Environment 25: 275-294.
22. Maiti, R.K., Moreno-limon, S., and Wesche-ebeling, P. 2002. Responses of some crops to various abiotic stress factors and its physiological and biochemical basis of resistances. Agricultural Reviews 21: 155-167.
23. Malik, M.A., Cheema, M.A., and Khan, H.Z. 2006. Growth and yield response of soybean (*Glycine max* L.) to seed inoculation and varying phosphorus levels. Journal of Agricultural Research 44(1): 47-53.
24. Ministry of Jihad-e-Agriculture. 2018. Agricultural Statistics for Agronomy, 2015-16. Department of Statistics and Information. 146 pp. (In Persian).
25. Mirakhori, M., Paknejad, F., Moradi, F., Ardakani, M.R., Zahedi, H., and Nazeri, P. 2009. Effect of drought stress and Methanol on yield and yield components of soybean Max (L17). American Journal of Biochemistry and Biotechnology 5(4): 162-169.
26. Nemecek-Marshall, M., MacDonald, R.C., Franzen, J.J., Wojciechowski, C.L., and Fall, R. 1995. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance and leaf development. Plant Physiology 108: 1359-1368.
27. Nonomura, A.M., and Benson, A.A. 1992. The path to carbon in photosynthesis: introved crop yields with methanol. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America the Academy 89: 9794-9798.
28. Qiao, G., Wen, X.P., Yu, L.F., and Jil, X.B. 2011. The enhancement of drought tolerance for pigeon pea inoculated by arbuscular mycorrhizae fungi. Plant Soil Environment 57: 541-546.
29. Rahman, S.M., and Uddin, A.S.M. 2000. Ecological adaptation of chickpea to water stress. Legume Research 23: 1-8.
30. Ramberg, H.A., Bradly, J.S.S., Olseon, I.S.C., Nishio, J.N., Markwell, J., and Osterman, J.C. 2002. The role of menthal in promithing plant groeth: an update. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 1: 113-126.

31. Roesti, D., Gaur, R., Johrim, B.N., Imfeld, G., Sharma, S., Kawaljeet, K., and Aragno, M. 2006. Plant growth stage, fertilizer management and bioinoculation of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the Rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. Soil of Biology and Biochemistry 38: 1111-1120.

32. Ronanini, D., Savin, R., and Hal, A.J. 2004. Dynamic of fruit growth and oil quality of sunflower (*Helianthus annuus* L.) exposed to brief interval of high temperature during grain filling. Field Crop Research 83: 79-90.

33. Rudresh, D.L., Shivaprakash, M.K., and Prasad, R.D. 2005. Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Applied Soil Ecological 28: 139-146.

34. Sabaghpour, S.H., Sherifi, A., and Aradatmand Asli, D. 2019. The effect of biological and chemical nitrogen fertilizer on yield and yield components of improved chickpea varieties under rainfed conditions. Iranian Journal of Pulses Research 10(2): 49-61.(In Persian with English Summary).

35. Sam Dalire, M., Seyed Sharifi, R., and Esmaelpour, B. 2010. Pulses Agronomy. Islamic Azad University press. 282 pp. (In Persian).

36. Seyed Sharifi, R. 2016. Application of biofertilizers and zinc increases yield, nodulation and unsaturated fatty acids of soybean (*Glycine max* L). Journal of Zemdirbyste-Agriculture 103(3): 251-258.

37. Sohrabi, Y., Heidari, G., Weisany, W., Ghasemi-Golezani, K., and Mohammadi, K. 2012. Some physiological responses of chickpea cultivars to arbuscular mycorrhiza under drought stress. Russian Journal of Plant Physiology 59: 708-716.

38. Stancheva, I., Geneva, M., Zehirov, G., Tsvestkova, G., Hristozkova, M., and Georgiev, G. 2010. Nodule formation and nitrogen fixing activity. Genetic Appled and Plant Physiology. Special Issue: 61-66.

39. Togay, N., Togay, Y., Cimrin, K.M., and Turan, M. 2008. Effect of rhizobium inoculation, sulfur and phosphorus application on yield, yield components and nutrient uptake in chickpea (*Cicer aretinum* L.). African Journal of Biotechnology 7: 776-782.

40. Tsuno, Y., Yamaguchi, T., and Nakano, J. 1994. Potential dry matter production and grain filling process of rice plant from the viewpoint of source-sink relationships and the role of root respiration in its relationship. Bull. Faculty of Agricultural. Tottori University. 47: 1-10.

41. Vessey, J.K., and Buss, T.J. 2002. Bacillus cereus UW85 inoculation effects on growth, nodulation, and N accumulation in grain legumes. Controlled-environment studies. Canadian Journal of Plant Science 82: 282-290.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 12, No. 2, December 2021, p. 12-25 (Original Research Article)

Study of grain filling components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) using segmented model under irrigation withholding condition, Methanol application and seed inoculation with bio fertilizers

Seyed Sharifi[1*], Raouf and Seyed Sharifi[2], Reza

1. Proffesor, Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Facultuy of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil
2. Associate Proffesor, Department of Animal Science, Facultuy of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil; reza_seyedsharifi@yahoo.com

Received: 6 January 2020; **Revised:** 26 May 2020
Accepted: 27 July 2020; **Available Online:** 22 December 2021

DOI: 10.22067/ijpr.v12i2.84971

How to cite this article:
Seyed Sharifi, R., and Seyed Sharifi, R. 2021. Study of grain filling components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) using segmented model under irrigation withholding condition, Methanol application and seed inoculation with bio fertilizers. Iranian Journal of Pulses Research 12(2): 12-25.

Introduction

Drought stress is the most influential factors affecting crop yield particularly in irrigated agriculture in arid and semiarid regions. Drought, being the most important environmental stress, severely impairs plant growth and development, limits plant production and the performance of crop plants, more than any other environmental factor. The impact of the drought on plant species depends on variety, severity and duration of the stress as well as on the development stage. The closing stomata which reduce transpiration and conserve water in plants is the first mechanism of plants against dehydration stress, which in turn limits CO_2 fixation. One of the important strategies for increasing of carbon dioxide concentration in plants is using compounds such as methanol that can increase the concentration of CO_2 in a plant will improve photosynthesis rate and growth under water deficit conditions. Among the numerous microorganisms in the rhizosphere, some have positive effects on plant growth promotion. These microorganisms are bio fertilizers such as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), which colonize the rhizosphere and roots of many plant species and confer beneficial effects to plants. Using rhizosphere microorganisms, particularly beneficial bacteria are an alternative strategy that can improve plant performance under stress environments and, consequently, enhance plant growth through different mechanisms. Mycorrhiza is a symbiotic association between plant roots and fungi and form symbiotic association with terrestrial as well as aquatic plants. They also impart other benefits to them including production/accumulation of secondary metabolites, osmotic adjustment under osmotic stress, improved nitrogen fixation, enhanced photosynthesis rate, and increased resistance against biotic and abiotic stresses. The mechanisms used by mycorrhiza to enhance the water relations of host plants are not amply clear, however, this may occur by increasing water absorption by external hyphae, regulation of stomatal apparatus, increase in activity of antioxidant enzymes and absorption of nutrients particularly phosphorus. Hence, application of bio fertilizers and methanol presumably looks to be a promising practice in plant yield optimization under suboptimal growth conditions. So, better understanding of chickpea physiological responses under water limitation may help in programs which the objective is to improve the grain yield under water limitation. Therefore, the aim of this study was to evaluate of grain filling components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) using segmented model under irrigation withholding condition, methanol application and seed inoculation with bio fertilizers.

*** Corresponding Author:** raouf_ssharifi@yahoo.com

Material and Methods

A factorial experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications at the farm of Piralger from Ardabil provence in 2017-2018. The experimental factors included: application of methanol (foliar application with water as control, application 20 and 30 volume percent), bio fertilizers at four levels (no application as control, *Mesorhizobium ciceri* application, both application mycorhyza with *Mesorhizobium ciceri*, application of mycorhyza with *Mesorhizobium ciceri* and *Psesomonas putida*) and three irrigation levels (full irrigation as control, severe water limitation or irrigation withholding at flowering stage, moderate water limitation or irrigation withholding at podding). To investigate grain filling parameters in each sampling, two plants in each plot were taken. The first sampling was taken on day 12 after podding, and other samplings were taken in 5-days intervals to nv xfrikh determine the accumulation of grain weight. At each sampling, grains were removed from pods manually and were dried at 80°C for 48 h. We applied grain dry weight and number to estimate the mean grain weight per sample. Following Borrás and Otegui (2001), we calculated total duration of grain filling for each treatment combination through fitting a bilinear model:

$$GW = \begin{cases} a + bt_0 & t<t_0 \\ a + bt & t>t_0 \end{cases}$$

Where GW is the grain dry weight; a, -intercept; b, the slope of grain weight indicating grain filling rate. Borrás, Slafer, and Otegui (2004) determined grain filling using a bilinear model. Effective grain filling period (EFP) was calculated from the following equation:

$$EFP = MGW/b$$

Where MGW: the highest grain weight (g) and b: grain filling rate (g day^{-1}). Conversely, an increase in kernel weight in filling period was calculated using the above-cited equation in statistical software SAS $_{9.2}$ via Proc NLIN DUD method. The analysis of variance and mean comparisons were performed using SAS computer software packages. The main effects and interactions were tested using the least significant difference (LSD) test at the 0.05 probability level.

Results and Discussion

A two part linear model was used to quantify the grain filling parameters. The highest number and weight of noduls per plant (11.6 and 113.21 mg per plant, respectively), chlorophyll index (50.28), grain filling rate (0.0117 g/day), grain filling period (39.57 days), effective grain filling period (32.2 days) and grain yield (1455 kg/ha) were obtained in full irrigation and high levels of methanol and application of mycorhyza, *Mesorhizobium ciceri* with Psesomonas which, there were 237 and 148 increases, respectively in number and weight of nodule per plant, 84.17% in chlorophyll index, 34.48% in grain filling rate, 21.38 and 25.3% in grain filling period and effective grain filling period respectively and 111% in grain yield in comparison with no application of methanol and bio fertilizers under irrigation withholding at flowering stage conditions.

Conclusion

Based on the results, it seems that seed inoculation by bio-fertilizers and foliar application of methanol in order to increasing of grain yield, rate and grain filling period under water limitation is effective.

Keywords: Mesorhizobium ciceri، Mycorhyza، Psesomonas، Water limitation، Yield